

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2008 年1 月24 日 (24.01.2008)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2008/010463 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 47/48 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01) C08G 81/00 (2006.01)
- (74) 代理人: 川口 義雄, 外(KAWAGUCHI, Yoshio et al.);
〒1020094 東京都千代田区紀尾井町7番1号 上智紀
尾井坂ビル 川口国際特許事務所 Tokyo (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2007/063990
- (22) 国際出願日: 2007 年7 月13 日 (13.07.2007)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2006-196503 2006 年7 月19 日 (19.07.2006) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日
本化薬株式会社 (NIPPON KAYAKU KABUSHIKI
KAISHA) [JP/JP]; 〒1028172 東京都千代田区富士見
一丁目1 1 番2号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 北川 正行 (KITA-
GAWA, Masayuki) [JP/JP]; 〒1158588 東京都北区志
茂3-3 1-1 2 日本化薬株式会社 医薬研究所内
Tokyo (JP). 石川 恵三 (ISHIKAWA, Keizou) [JP/JP]; 〒
1158588 東京都北区志茂3-3 1-1 2 日本化薬株
式会社 医薬研究所内 Tokyo (JP). 増田 亮 (MASUDA,
Akira) [JP/JP]; 〒1158588 東京都北区志茂3-3 1-
1 2 日本化薬株式会社 医薬研究所内 Tokyo (JP). 高
塩 一俊 (TAKASHIO, Kazutoshi) [JP/JP]; 〒1158588 東
京都北区志茂3-3 1-1 2 日本化薬株式会社 医
薬研究所内 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が
可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH,
BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,
DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK,
SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可
能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD,
SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY,
KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG,
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE,
IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: POLYMER CONJUGATE OF COMBRETASTATIN

(54) 発明の名称: コンブレタスタチン類の高分子結合体

(57) Abstract: A novel derivative of a combretastatin which has water solubility and is capable of releasing a drug independent of biological enzymes in which individual differences are likely caused and whose effective therapeutic effect can be expected has been demanded. A polymer conjugate of a combretastatin, characterized by having a structure in which a hydroxy group of a combretastatin is linked via an ester bond to a carboxylic acid group of the following polymer moiety in a block copolymer of a polyethylene glycol structure moiety with a polymer moiety having two of more carboxylic acid groups such as polyaspartic acid or polyglutamic acid is provided.

(57) 要約: 【課題】 個体差を生じやすい生体の酵素に依存することのない薬剤の放出が可能であり、有効な治療効果が期待でき、且つ、水溶性を有するコンブレタスタチン類の新規誘導体が求められている。【解決手段】 ポリエチレングリコール構造部分とポリアスパラギン酸やポリグルタミン酸等の2以上のカルボン酸基を有するポリマー部分とのブロック共重合体における該ポリマー部分のカルボン酸基と、コンブレタスタチン類の水酸基とがエステル結合した構造を有することを特徴とするコンブレタスタチン類の高分子結合体を提供する。

明 細 書

コンブレタスタチン類の高分子結合体

技術分野

- [0001] 本発明は、ポリエチレングリコール構造部分と2以上のカルボン酸基を有するポリマー部分とのブロック共重合体における該ポリマー部分のカルボン酸基と、コンブレタスタチン類の水酸基とがエステル結合しているコンブレタスタチン類の高分子結合体、その製造方法及びその用途に関する。

背景技術

- [0002] コンブレタスタチンは、1980年代にアフリカの樹木である *Combretum caffrum* 等から単離され、チューブリン重合阻害活性が確認された。特に、血管内皮細胞に形態学的な変化を引き起こして血流抑制活性を有する。従って、固形癌や慢性関節リウマチ等の新血管形成に関連した疾患の治療剤として期待されている。なお、コンブレタスタチン類の製造法は非特許文献1に開示されている。しかし、コンブレタスタチン類は一般に水に極めて難溶性であるため水溶性を付与する研究や、患部で効率的に薬効を発揮させるための研究が行われてきた。
- [0003] これまでに、コンブレタスタチンのリン酸エステル型プロドラッグの製造法が特許文献1に開示されている。又、非特許文献2にはアミノ基を有するコンブレタスタチン誘導体、およびその誘導体が患部で選択的に薬効を発現するためのアミノ酸結合プロドラッグが記述されている。
- [0004] 一方、難水溶性抗がん剤への水溶性の付加や患部への集積を目的に、高分子を担体とする研究も行われている。例えば、特許文献2や特許文献3にはポリエチレングリコールを結合したプロドラッグとしての難水溶性抗がん剤の高分子誘導体について記載されている。しかしながら、コンブレタスタチン類の結合体については記載されていない。又、これらの難水溶性抗がん剤の高分子誘導体は、構造上ポリエチレングリコール一分子に対して1～2個の分子しか結合できない。このため、有効量の薬剤を投与するためには大量のポリマーの投与が必要となる。
- [0005] 特許文献4にはミセルを形成し水溶性を示すポリエチレングリコールとポリアスパラ

ギン酸のブロック共重合体に薬剤を結合した分子が記載されている。特許文献5にはポリエチレングリコール類とポリ酸性アミノ酸とのブロック共重合体の側鎖カルボン酸基に疎水性物質を結合した高分子薬物運搬体となる高分子担体が記載されている。特許文献6には、ポリエチレングリコール類とポリグルタミン酸とのブロック共重合体の側鎖カルボン酸基と、カンプトテシン類のフェノール性水酸基を結合させたカンプトテシン類の高分子誘導体が記載されている。しかしながら、特許文献4、特許文献5、特許文献6にはコンブレタスタチン類の結合体については記載されていない。

特許文献1:国際公開第02/06279号パンフレット

特許文献2:国際公開第93/24476号パンフレット

特許文献3:特表平10-513187号公報

特許文献4:特許第2694923号公報

特許文献5:特許第3268913号公報

特許文献6:国際公開第04/39869号パンフレット

非特許文献1:J. Org. Chem. , 66, 8135-8138(2001)

非特許文献2:Anti-Cancer Drug Design, 14, 539-548(1999)

発明の開示

発明が解決しようとする課題

- [0006] 非特許文献2に記載のコンブレタスタチンのプロドラッグは、コンブレタスタチンA-4と比較して水への溶解度は増加している。しかし、コンブレタスタチンA-4の放出は投与される被験体の血液中の内因性アミノペプチダーゼに依存するため、放出される薬剤の効果に個体差を生じることが危惧される。
- [0007] 特許文献1のコンブレタスタチンのリン酸エステル型プロドラッグは、コンブレタスタチンA-4と比較して水への溶解度は増加している。しかし、生体投与直後にリン酸エステルが加水分解されることが予想され、疾患部までプロドラッグがデリバリーされ、効率よくコンブレタスタチンA-4が効果を発揮するか不明である。特許文献2や特許文献3に記載のポリエチレングリコール類部分と薬剤との結合も生体の加水分解酵素によって切断されることを利用して薬剤の運搬と放出を制御している。しかしながら、生体の加水分解酵素は、種差はもとより同一種においても個体差が大きいと考え

られている。従って、これらの文献に記載されている薬剤結合体については、薬剤との結合の切断が生体の加水分解酵素に依存するため、放出される薬剤の効果に個体差を生じることが危惧される。

[0008] 又、特許文献5に記載されているアドリアマイシン結合体は、ブロック共重合体とアドリアマイシンがアミド結合で結合されている。しかしながら、アミド結合は化学的に安定な結合様式であるため加水分解による薬剤の放出が遅く、その薬効には疑問がある。

[0009] コンブレタスタチンA-4等のコンブレタスタチン類化合物は有用な抗癌剤であるが難溶性である。従って、水溶性を有し抗癌活性に優れる新規な誘導体が求められている。

課題を解決するための手段

[0010] 本発明者等は前記の課題を解決すべく鋭意努力した結果、ポリエチレングリコール構造部分と2以上のカルボン酸基を有するポリマー部分とのブロック共重合体における該ポリマー部分のカルボン酸基と、コンブレタスタチン類の水酸基とがエステル結合したコンブレタスタチン類の高分子結合体が、加水分解酵素に依存することなくコンブレタスタチン類を放出することを見出し、本発明を完成した。

[0011] 即ち、本発明は以下の1)～15)に関する。

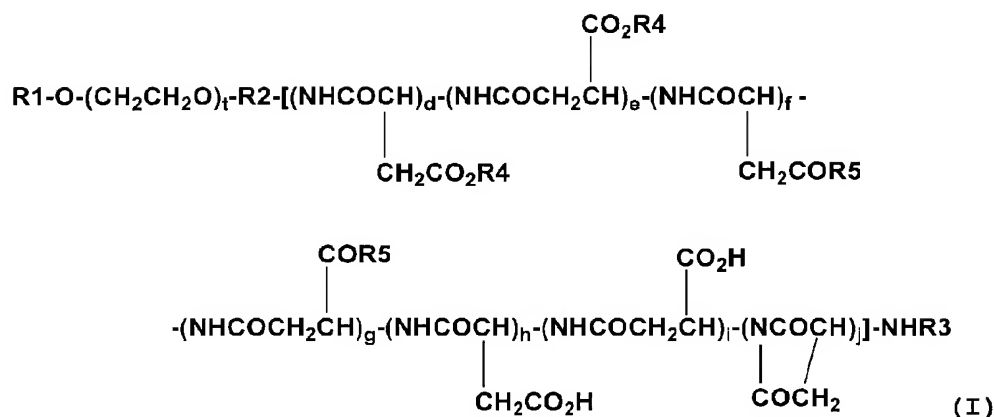
1) ポリエチレングリコール構造部分と2以上のカルボン酸基を有するポリマー部分とのブロック共重合体における該ポリマー部分のカルボン酸基と、コンブレタスタチン類の水酸基とがエステル結合しているコンブレタスタチン類の高分子結合体。

2) カルボン酸基を有するポリマー部分がコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーである上記1)記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。

3) コハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーがポリアスパラギン酸である上記2)記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。

[0012] 4) コンブレタスタチン類の高分子結合体が、一般式(I)

[0013] [化1]



[式中、R1は水素原子又は(C1～C6)アルキル基を示し、R2は結合基を示し、R3は水素原子又は(C1～C6)アシル基を示し、R4はコンブレタスタチン類の水酸基の残基を示し、R5は(C1～C30)アルコキシ基、(C7～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び-N(R6)CONH(R7)からなる群から選ばれる基を示し、R6、R7は同一でも異なってもよく、(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基を示し、tは5～11500の整数を示し、d、e、f、g、h、i若しくはjは各々独立に0～200の整数を示し、ただしd+eは1～200の整数を示し、且つ、d+e+f+g+h+i+jは3～200の整数を示し、ポリアスパラギン酸の各構成単位の結合順は任意である]

で表される化合物である上記1)～3)のいずれか一項に記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。

[0014] 5) R1が(C1～C6)アルキル基であり、R2が(C2～C6)アルキレン基であり、R3が(C1～C6)アシル基であり、tが100～300の整数であり、d、e、f、g、h、i若しくはjが各々独立に0～100の整数であり、ただしd+eが1～100の整数であり、ただしd+e+f+g+h+i+jが6～100の整数である上記4)のコンブレタスタチン類の高分子結合体。

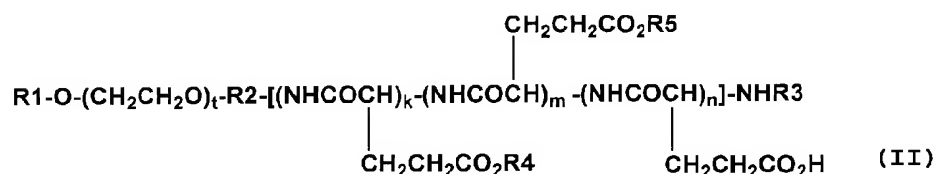
6) R1が(C1～C3)アルキル基であり、R2が(C2～C4)アルキレン基であり、R3が(C1～C3)アシル基であり、tが100～300の整数であり、d、e、f、g、h、i若しくはjが各々独立に0～90の整数であり、ただしd+eが1～90の整数であり、ただしd+e+f

+g+h+i+jが15～90の整数である上記4)又は5)に記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。

[0015] 7)カルボン酸基を有するポリマー部分がポリグルタミン酸である上記1)記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。

[0016] 8)コンブレタスタチン類の高分子結合体が、一般式(II)

[0017] [化2]



[式中、R1は水素原子又は(C1～C6)アルキル基を示し、R2は結合基を示し、R3は水素原子又は(C1～C6)アシル基を示し、R4はコンブレタスタチン類の水酸基の残基を示し、R5は(C1～C30)アルコキシ基、(C7～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び-N(R6)CONH(R7)からなる群から選ばれる基を示し、R6、R7は同一でも異なってもよく、(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基を示し、tは5～11500の整数を示し、kは1～200の整数を示し、m、nは各々独立に0～200の整数を示し、ただしk+m+nは3～200の整数を示し、ポリグルタミン酸の各構成単位の結合順は任意である]で表される化合物である上記1)又は7)に記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。

[0018] 9)R1が(C1～C6)アルキル基であり、R2が(C2～C6)アルキレン基であり、R3が(C1～C6)アシル基であり、tが100～300の整数であり、kが1～90の整数であり、m、nが各々独立に0～90の整数であり、ただしk+m+nが6～90の整数である上記8)記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。

10)R1が(C1～C3)アルキル基であり、R2が(C2～C4)アルキレン基であり、R3が(C1～C3)アシル基であり、tが100～300の整数であり、kが3～60の整数であり、m、nが各々独立に0～60の整数であり、ただしk+m+nが6～60の整数である上

記8)又は9)に記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。

[0019] 11)コンブレタスタチン類がコンブレタスタチンA-4である上記1)～10)のいずれか一項に記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。

12)ポリエチレングリコール構造部分と2以上のカルボン酸基を有するポリマー部分とのブロック共重合体における該ポリマー部分のカルボン酸基と、コンブレタスタチン類の水酸基とを、有機溶媒中、脱水縮合剤を用いてエステル結合させて得られるコンブレタスタチン類の高分子結合体。

13)ポリエチレングリコール構造部分と2以上のカルボン酸基を有するポリマー部分とのブロック共重合体における該ポリマー部分のカルボン酸基と、コンブレタスタチン類の水酸基とを有機溶媒中、脱水縮合剤を用いてエステル結合させることを特徴とする上記1)～11)のいずれか一項に記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体の製造方法。

14)上記1)～12)のいずれか一項に記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体を有効成分とする抗癌剤。

15)上記1)～12)のいずれか一項に記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体を有効成分とする血管標的化剤。

発明の効果

[0020] 本発明のコンブレタスタチン類の高分子結合体は、ポリエチレングリコール構造部分と2以上のカルボン酸基を有するポリマー部分とのブロック共重合体における該ポリマー部分のカルボン酸基と、コンブレタスタチン類の水酸基とがエステル結合している。このため、本発明のコンブレタスタチン類の高分子結合体は、生体の加水分解酵素に依存することなく薬剤放出が可能であり、個体差に影響されにくい有効な治療効果を示す。

発明を実施するための最良の形態

[0021] 本発明のコンブレタスタチン類の高分子結合体は、ポリエチレングリコール構造部分と2以上のカルボン酸基を有するポリマー部分とのブロック共重合体における該ポリマー部分のカルボン酸基と、コンブレタスタチン類の水酸基とがエステル結合している。本発明において2以上のカルボン酸基を有するポリマーとは特に限定されない

が、例えば、2以上のコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーやポリグルタミン酸等が挙げられる。

- [0022] 本発明においてコハク酸モノアミド構造部分とは、 $-\text{HNCO}-\text{C}-\text{C}-\text{CO}_2\text{H}$ 構造を意味する。例えば、コハク酸モノアミド($-\text{HNCO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H}$)や、アスパラギン酸の2個のカルボン酸基のうち1個がアミド化された構造($-\text{HNCO}-\text{CH}(\text{NH})-\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H}$ あるいは $-\text{HNCO}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH})-\text{CO}_2\text{H}$)等が挙げられる。これらコハク酸モノアミド構造部分は、例えば、ポリアスパラギン酸のようにポリマーの主鎖を構成していてもよい。あるいは、デキストラン等のポリアルコール、ポリリジン等のポリアミン、ポリアスパラギン酸以外のポリカルボン酸(例えば、ポリ乳酸等)からなる主鎖ポリマーの官能基に結合したものでよい。

コハク酸モノアミド構造部分は環化構造(コハク酸イミド)へ変化するのに伴って水酸基を有する化合物を遊離すると考えられる。

- [0023] 本発明のコンブレタスタチン類の高分子結合体のポリマーにおけるポリエチレングリコール構造部分としては両末端又は片末端が修飾されたポリエチレングリコールが挙げられ、両末端が修飾されている場合、その修飾基は同一でも異なってもよい。該修飾基としては置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基が挙げられる。置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基のアルキル基としては後記のアルキル基が挙げられ、好ましくは(C1～C4)アルキル基が挙げられ、例えば、メチル基、エチル基、n-プロピル基、n-ブチル基等が挙げられる。置換基を有していてもよい(C1～C6)アルキル基の置換基としては、例えば、アミノ基、メチルアミノ基、ジメチルアミノ基、エチルアミノ基、ジエチルアミノ基等が挙げられる。

- [0024] ポリエチレングリコール構造部分の分子量としては300～500000程度であり、好ましくは500～100000程度、更に好ましくは1000～50000程度である。

- [0025] 本発明におけるポリエチレングリコール構造部分と2以上のカルボン酸基を有するポリマー部分とのブロック共重合体の分子量は500～500000程度、好ましくは600～100000程度、更に好ましくは800～80000程度である。

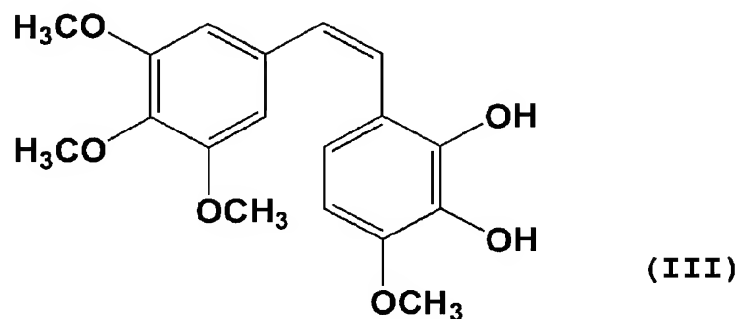
なお、本発明における分子量とはGPC法で測定した重量平均分子量である。

- [0026] 本発明のコンブレタスタチン類の高分子結合体において、ポリエチレングリコール

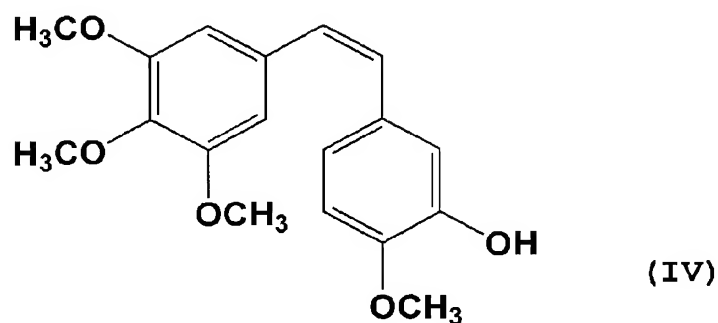
構造部分と2以上のカルボン酸基を有するポリマー部分とのブロック共重合体に結合するコンブレタスタチン類の結合量は、総カルボン酸基数の1～100%、好ましくは1～90%、更に好ましくは2～60%である。

[0027] 本発明においてコンブレタスタチン類としては、水酸基を有し、且つ、抗腫瘍活性を有しているコンブレタスタチン骨格化合物、即ち、酸素官能基を有するスチルベン構造を有する化合物であれば特に限定されない。該コンブレタスタチン類としては、例えば、下記式で表されるコンブレタスタチンA-1 (III)、コンブレタスタチンA-4 (IV)、AC-7700 (V) 等が挙げられる。コンブレタスタチン類の水酸基としては、下記式のようにフェノール性水酸基もアルコール性水酸基も挙げられ、その置換位置も限定されない。

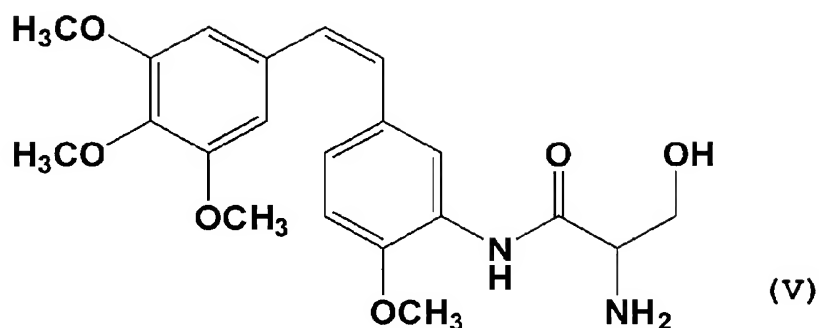
[0028] [化3]



[0029] [化4]



[0030] [化5]



- [0031] 本発明において2以上のコハク酸モノアミド構造部分としてはポリアスパラギン酸が好ましい。又、その他の2以上のカルボン酸基を有するポリマー部分としてはポリグルタミン酸が好ましい。
- [0032] 本発明のコンブレタスタチン類の高分子結合体として好ましくは、ポリアスパラギン酸を含む上記一般式(I) [式中、R1は水素原子又は(C1～C6)アルキル基を示し、R2は結合基を示し、R3は水素原子又は(C1～C6)アシル基を示し、R4はコンブレタスタチン類の水酸基の残基を示し、R5は(C1～C30)アルコキシ基、(C7～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び-N(R6)CONH(R7)からなる群から選ばれる基を示し、R6、R7は同一でも異なってもよく、(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基を示し、tは5～1500の整数を示し、d、e、f、g、h、i若しくはjは各々独立に0～200の整数を示し、ただしd+eは1～200の整数を示し、且つ、d+e+f+g+h+i+jは3～200の整数を示し、ポリアスパラギン酸の各構成単位の結合順は任意である]で表される化合物、あるいは、ポリグルタミン酸を含む上記一般式(II) [式中、R1は水素原子又は(C1～C6)アルキル基を示し、R2は結合基を示し、R3は水素原子又は(C1～C6)アシル基を示し、R4はコンブレタスタチン類の水酸基の残基を示し、R5は(C1～C30)アルコキシ基、(C7～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び-N(R6)CONH(R7)からなる群から選ばれる基を示し、R6、R7は同一でも異なってもよく、(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基を示し、tは5～1500の整数を示し、d、e、f、g、h、i若しくはjは各々独立に0～200の整数を示し、ただしd+eは1～200の整数を示し、且つ、d+e+f+g+h+i+jは3～200の整数を示し、ポリグルタミン酸の各構成単位の結合順は任意である]で表される化合物。

アルキル基を示し、 t は5～11500の整数を示し、 k は1～200の整数を示し、 m 、 n は各々独立に0～200の整数を示し、ただし $k+m+n$ は3～200の整数を示し、ポリグルタミン酸の各構成単位の結合順は任意である]で表される化合物が挙げられる。

- [0033] 上記一般式(I)あるいは(II)の R_1 における(C1～C6)アルキル基としては、直鎖又は分岐鎖の炭素数1～6のアルキル基を挙げることができる。なかでも直鎖又は分岐鎖の(C1～C4)アルキル基が好ましく、特に直鎖又は分岐鎖の(C1～C3)アルキル基が好ましい。直鎖又は分岐鎖の(C1～C6)アルキル基としては、例えば、メチル基、エチル基、 n -プロピル基、 i -プロピル基、 n -ブチル基、 t -ブチル基、 n -ペンチル基、 n -ヘキシル基等が挙げられ、特にメチル基、エチル基、 n -プロピル基、 i -プロピル基が好ましく、中でもメチル基が好ましい。
- [0034] 上記一般式(I)あるいは(II)の R_2 で表される結合基としては、特に限定されないが、例えば、(C2～C6)アルキレン基が挙げられ、なかでも(C2～C4)アルキレン基が好ましい。(C2～C4)アルキレン基としては例えば、エチレン基、トリメチレン基、ブチレン基等が挙げられ、特にトリメチレン基が好ましい。
- [0035] 上記一般式(I)あるいは(II)の R_3 における(C1～C6)アシル基としては、特に限定されないが、例えば、ホルミル基、アセチル基、プロピオニル基、ピバロイル基等が挙げられ、アセチル基が好ましい。
- [0036] 上記一般式(I)あるいは(II)の R_4 におけるコンブレタスタチン類の水酸基の残基においてコンブレタスタチン類としては、上記のコンブレタスタチン類を挙げることができる。ポリマー部分のカルボン酸基と脱水縮合剤によりエステル結合をする水酸基を有し、且つ、抗腫瘍活性を有するコンブレタスタチン類であれば特に限定されない。該コンブレタスタチン類として好ましくは、例えば、上記のコンブレタスタチンA-4が挙げられる。
- [0037] 上記一般式(I)あるいは(II)の R_5 としては、(C1～C30)アルコキシ基、(C7～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び $-N(R_6)CONH(R_7)$ からなる群から選ばれる基を示し、 R_6 、 R_7 は同一でも異なってもよく、(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基である。一般

式(I)あるいは(II)のR5としては、一分子中同一でも異なってもよく、又、コンブレタスタチン類の高分子結合体に使用されるポリマーにおいて、単一でも混合物であってもよい。

[0038] 該(C1～C30)アルコキシ基としては、直鎖又は分岐鎖の(C1～C30)アルコキシ基を挙げることができる。なかでも直鎖又は分岐鎖の(C1～C10)アルコキシ基が好ましく、例えば、メキシ基、エトキシ基、*n*-プロポキシ基、*i*-プロポキシ基、*n*-ブトキシ基、*t*-ブトキシ基等を挙げることができる。(C7～C30)アラルキルオキシ基としては、直鎖又は分岐鎖の(C7～C30)アラルキルオキシ基、又は直鎖又は分岐鎖の(C7～C12)アラルキルオキシ基が好ましい。例えば、4-フェニルブトキシ基等を挙げることができる。

[0039] 該(C1～C30)アルキルアミノ基又はジ(C1～C30)アルキルアミノ基としては、直鎖又は分岐鎖の(C1～C30)アルキルアミノ基又はジ(C1～C30)アルキルアミノ基が挙げられ、直鎖又は分岐鎖の(C1～C20)アルキルアミノ基又はジ(C1～C20)アルキルアミノ基が好ましく、例えば、メチルアミノ基、エチルアミノ基、*n*-プロピルアミノ基、*i*-プロピルアミノ基、*n*-ブチルアミノ基、*t*-ブチルアミノ基、ジメチルアミノ基、ジエチルアミノ基、ジブチルアミノ基等が挙げられる。

[0040] 該カルボキシ基が保護されたアミノ酸としては、通常のペプチド合成で用いられるカルボキシ基が保護されたアミノ酸が挙げられる。例えば、フェニルアラニンベンジルエステル等が好ましい。

[0041] 一般式(I)あるいは(II)のR5における-N(R6)CONH(R7) [R6、R7は同一でも異なってもよく、(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基である]とは、特に限定されない。例えば、シクロヘキシルアミノカルボニルシクロヘキシルアミノ基、イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基等が挙げられる。

[0042] 本発明の上記一般式(I)で表されるコンブレタスタチン類の高分子結合体における2以上のコハク酸モノアミド構造部分であるポリアスパラギン酸には、 α -アミノ酸型、 β -アミノ酸型、環化したもの等の構成単位があるが、ポリアスパラギン酸のすべてが環化したものは含まない。これらの構成単位の結合順は限定されず、ブロック型で

もランダム型でもよい。又、各構成単位はL型でもD型でもよい。

- [0043] 上記一般式(I)で表されるコンブレタスタチン類の高分子結合体における全アスパラギン酸数は $d+e+f+g+h+i+j$ で表され、3～200個程度であり、好ましくは6～100個程度であり、特に好ましくは15～90個である。全アスパラギン酸数は、例えば、ポリエチレングリコール構造部分とポリアスパラギン酸のブロック共重合体の製造時における反応仕込み量により自由に変えることができる。

全アスパラギン酸数($d+e+f+g+h+i+j$)に対するコンブレタスタチン類の結合したアスパラギン酸数($d+e$)の割合は1～100%、好ましくは3～90%、更に好ましくは4～60%である。又、アスパラギン酸数($d+e$)として1～200個程度、好ましくは1～100個程度、特に好ましくは1～90個程度である。コンブレタスタチン類の結合割合は、例えば、ブロック共重合体とコンブレタスタチン類の結合反応時における反応仕込み量により変えることができ、後記するように反応液の分析により求めることができる。

- [0044] 全アスパラギン酸数($d+e+f+g+h+i+j$)に対する α -アミノ酸型($d+f-h$)の割合は10～100%であり、好ましくは20～100%である。この割合は、例えば、ポリアスパラギン酸の保護基の脱保護条件等を選ぶことにより適宜変えることができる。

- [0045] 本発明の上記一般式(II)で表されるコンブレタスタチン類の高分子結合体におけるポリグルタミン酸は、 α -アミノ酸型であり、L型でもD型でもよい。

本発明の上記一般式(II)で表されるコンブレタスタチン類の高分子結合体における全グルタミン酸数は $k+m+n$ で表され、3～200個程度であり、好ましくは6～90個程度であり、特に好ましくは6～60個程度である。全グルタミン酸数は、例えば、ポリエチレングリコール構造部分とポリグルタミン酸のブロック共重合体の製造時における反応仕込み量により自由に変えることができる。

- [0046] 全グルタミン酸数($k+m+n$)に対するコンブレタスタチン類の結合したグルタミン酸数(k)の割合は1～100%、好ましくは3～90%、更に好ましくは4～60%である。又、グルタミン酸数(k)として1～200個程度、好ましくは1～90個程度、特に好ましくは3～60個程度である。コンブレタスタチン類の結合割合は、例えば、ブロック共重合体とコンブレタスタチン類の結合反応時における反応仕込量により変えることがで

き、又、反応液の分析により求めることができる。

[0047] 上記一般式(II)で表されるコンブレタスタチン類の高分子結合体におけるグルタミン酸構造の各構成部分は、その結合順は限定されず、ブロック型でもランダム型でもよい。

[0048] 上記一般式(I)あるいは(II)の t としては5～11500程度の整数であるが、好ましくは8～2300程度の整数であり、更に好ましくは100～300程度の整数である。

[0049] 本発明のコンブレタスタチン類の高分子結合体は、水中でポリエチレングリコール構造部分を外殻とするミセルを形成してもよい。

[0050] 本発明のコンブレタスタチン類の高分子結合体は、ポリエチレングリコール構造部分と2以上のカルボン酸基を有するポリマー部分とのブロック共重合体における該ポリマーのカルボン酸基と、コンブレタスタチン類の水酸基とを有機溶媒中、脱水縮合剤を用いてエステル結合させることにより得られ、当該製造方法も本発明に含まれる。即ち、例えば、特許文献5に記載の方法にて調製されるポリエチレングリコール構造部分ーポリアスパラギン酸のブロック共重合体、あるいは、特開平5-955号公報に記載された方法にて調製されるポリエチレングリコール構造部分ーポリグルタミン酸ブロック共重合体と、必要に応じて反応させる基以外の官能基を保護したコンブレタスタチン類とを、両者が溶解する有機溶媒中、0～180℃、好ましくは5～50℃で脱水縮合剤を用いた縮合反応に付す製造方法である。又、該縮合反応の際に反応補助剤を用いてもよい。該縮合反応に用いる有機溶媒は、特に限定はないが、好ましくはN, N-ジメチルホルムアミド(DMF)、1, 3-ジメチル-2-イミダゾリジノン(DMI)、N-メチルピロリドン(NMP)等の非プロトン性極性溶媒である。脱水縮合剤としてはジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、ジイソプロピルカルボジイミド(DIPC)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(WSC)、1-エトキシカルボニル-2-エトキシ-1, 2-ジヒドロキシキノリン(EEDQ)等を用いることができる。反応補助剤はN, N-ジメチルアミノピリジン(DMAP)等を用いることができる。縮合反応後、通常分離精製等の操作によりコンブレタスタチン類の高分子結合体を得られる。必要に応じて脱保護を行くこともある。例えば、コンブレタスタチン類がAC-7700(V)の場合には、アミノ基を t -ブトキシカルボニル基等の保護

基により保護し、ブロック共重合体と縮合反応に供した後、トリフルオロ酢酸等で脱保護することにより製造可能である。

- [0051] 又、R5が-N(R6)CONH(R7)基であり、R6、R7は同一でも異なってもよく、(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基であるコンブレタスタチン類の高分子結合体は、上記のカルボジイミド類を縮合剤として用いる反応によっても得られる。
- [0052] 一般式(I)あるいは(II)の化合物中のR5が(C1～C30)アルコキシ基、(C1～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基又はカルボキシ基が保護されたアミノ酸である化合物の製造方法としては、ポリマーのカルボン酸基を活性化してから結合させたい量の対応するアルコール又は対応するアミンやカルボキシ基が保護されたアミノ酸等を塩基性条件下に縮合反応させる方法、あるいは、対応するアルコール、対応するアミンやカルボキシ基が保護されたアミノ酸等を活性化させてからポリマーに縮合反応させる方法等が挙げられる。ポリマーを精製した後に同様の反応でポリマー中の未反応のカルボン酸基を再活性化させ、ここにコンブレタスタチン類の水酸基を縮合させてもよく、あるいは、異なるアルコール、アミン等を繰り返し反応させて、R5が種々の置換基で置換されている混成体ポリマーを合成し、次いで、コンブレタスタチン類の水酸基を縮合させてもよい。又、コンブレタスタチン類を縮合させた後に(C1～C30)アルコキシ基、(C1～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基又はカルボキシ基が保護されたアミノ酸等を導入してもよい。
- [0053] ただし、本発明のコンブレタスタチン類の高分子結合体の製造法は上記の方法に限定されるわけではない。
- [0054] 本発明には、本発明のコンブレタスタチン類の高分子結合体を有効成分とする抗癌剤も含まれる。また、本発明には、本発明のコンブレタスタチン類の高分子結合体を有効成分とする血管標的化剤、即ち、血流の抑制による新血管形成に関連した疾患の治療剤、例えば、慢性関節リウマチ、加齢性黄斑変性症、糖尿病性網膜症等の治療剤も含まれる。該高分子結合体は、注射剤、錠剤、散剤等の通常使用されている剤型にて使用され得る。製剤化に当たり通常使用されている薬学的に許容される

担体や、例えば、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、溶剤、賦形剤、可溶化剤、分散剤、安定化剤、懸濁化剤、保存剤、無痛化剤、色素、香料等が使用できる。中でも、注射剤としての使用が好ましく、通常、例えば、水、生理食塩水、5%ブドウ糖又はマンニトール液、水溶性有機溶媒(例えば、グリセロール、エタノール、ジメチルスルホキシド、N-メチルピロリドン、ポリエチレングリコール、クレモフォア等又はそれらの混合液)あるいは水と該水溶性有機溶媒の混合液等が使用される。

- [0055] 本発明のコンブレタスタチン類の高分子結合体の投与量は、患者の性別、年齢、生理的状态、病態等により当然変更され得るが、例えば、非経口的に、通常、成人1日当たり、活性成分として $0.01 \sim 500 \text{mg/m}^2$ 、好ましくは $0.1 \sim 250 \text{mg/m}^2$ を投与する。注射による投与は、静脈内、動脈内、患部(腫瘍部)等に行われる。

実施例

- [0056] 以下、本発明を実施例により更に具体的に説明するが、本発明がこれらの実施例に限定されるものではない。

- [0057] 実施例1 化合物1(分子量5000のメキシポリエチレングリコール部分と重合数が30のポリアスパラギン酸部分からなるブロック共重合体と、コンブレタスタチンA-4との結合体:一般式(I)の $R1 = \text{Me}$ (メチル基)、 $R2 = \text{トリメチレン基}$ 、 $R3 = \text{Ac}$ (アセチル基)、 $R4 = \text{コンブレタスタチンA-4残基}$ 、 $R5 = \text{イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基}$ 、 $d+e+f+g+h+i+j=30$ 、 $t=113$)の合成

特許文献5に記載された方法によって調製したメキシポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロック共重合体(アスパラギン酸部分: α 型と β 型の混合体、重合数30、2670mg)と非特許文献1に記載の方法で合成したコンブレタスタチンA-4(600mg)をDMF(60ml)に溶解し、DMAP(174mg)、DIPC(2.97ml)を加え、25℃にて20時間攪拌した。反応液に酢酸エチル(180ml)及びジイソプロピルエーテル(720ml)を加え、室温にて30分攪拌した後沈析物を濾取し、酢酸エチル/ジイソプロピルエーテル(1/4(v/v)、30ml)で洗浄した。得られた沈析物をアセトニトリル/水(1/1(v/v)、100ml)に溶解後、イオン交換樹脂(ダウケミカル社製ダウエックス50(H^+)、15ml)に通塔し、アセトニトリル/水(1/1(v/v)、20ml)にて溶出した。得られた溶出画分に水(60ml)を加え、アセトニトリルを減圧下留去し、その後

凍結乾燥することによって化合物1 (2670mg)を得た。

- [0058] HPLC (高速液体クロマトグラフィー: カラム; イナートシルODS-3 (GLサイエンス社製)、溶媒系; 0.1%リン酸水溶液-アセトニトリル (50%-50% (v/v))) による反応液中の未反応コンブレタスタチンA-4量の計量から、化合物1中のコンブレタスタチンA-4含量は10.4% (w/w)、 $d+e+f+g+h+i+j$ に対する $d+e$ の割合は10.6%であった。化合物1中、遊離のコンブレタスタチンA-4は未検出であった。

又、R5としてイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基が導入され、その存在比は化合物1を重水酸化ナトリウム/重水/重アセトニトリルに溶解したものの¹H-NMR (水素核磁気共鳴スペクトル) から求められる。化合物1におけるイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基がポリアスパラギン酸に占める割合、即ち、 $d+e+f+g+h+i+j$ に対する $f+g$ の割合は16.2%であった。その他のアスパラギン酸は遊離カルボン酸 ($h+i$) あるいは環状構造 (j) である

- [0059] 実施例2 化合物2 (分子量12000のメキシポリエチレングリコール部分と重合数が23のポリグルタミン酸部分からなるブロック共重合体と、コンブレタスタチンA-4との結合体) の合成: 一般式 (II) の $R1=Me$ (メチル基)、 $R2=$ トリメチレン基、 $R3=Ac$ (アセチル基)、 $R4=$ コンブレタスタチンA-4残基、 $R5=$ イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基、 $k+m+n=23$ 、 $t=273$) の合成

特開平5-955号公報に記載された方法によって調製したメキシポリエチレングリコール-ポリグルタミン酸ブロック共重合体 (581mg) と非特許文献1記載の方法で合成したコンブレタスタチンA-4 (100mg) をDMF (4.5ml) に溶解し、DMAP (16.5mg)、DIPC (0.283ml) を加え、20℃にて40時間攪拌した。反応液にDIPC (0.070ml) を加え、25℃に昇温後1.5時間攪拌を継続した。反応液にエタノール (60ml) 及びジイソプロピルエーテル (240ml) を加え、室温にて3時間攪拌した後沈析物を濾取し、エタノール/ジイソプロピルエーテル (1/4 (v/v)、50ml) で洗浄した。得られた沈析物をアセトニトリル/水 (1/1 (v/v)、50ml) に溶解後、イオン交換樹脂 (ダウケミカル社製ダウエックス50 (H⁺)、15ml) に通塔し、アセトニトリル/水 (1/1 (v/v)、50ml) にて溶出した。得られた溶出面分に水 (3ml) を加えた後アセトニトリルを減圧下留去し、その後凍結乾燥することによって、化合物2 (550mg) を得た

。

- [0060] HPLCによる反応液中の未反応コンブレタスタチンA-4量の計量から化合物2中のコンブレタスタチンA-4含量は11.2% (w/w)であった。化合物2中、遊離のコンブレタスタチンA-4は未検出であった。
- [0061] 又、R5としてイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基が導入され、その存在比は化合物2を重水酸化ナトリウム／重水／重アセトニトリルに溶解したものの¹H-NMR (水素核磁気共鳴スペクトル)から求められ、イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基がポリアスパラギン酸に占める割合、即ち、 $k+m+n$ に対する m の割合は32%だった。
- [0062] 実施例3 化合物3 (分子量12000のメキシポリエチレングリコール部分と重合数が33のポリアスパラギン酸部分からなるブロック共重合体とコンブレタスタチンA-4との結合体:一般式(I)の $R1=Me$ (メチル基)、 $R2=$ トリメチレン基、 $R3=Ac$ (アセチル基)、 $R4=$ コンブレタスタチン残基、 $R5=$ イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基およびO-ベンジル-L-フェニルアラニル基、 $d+e+f+g+h+i+j=33$ 、 $t=273$)の合成
- 特許文献5に記載された方法によって調製したメキシポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロック共重合体 (アスパラギン酸部分: α 型と β 型の混合体、重合数33、605.4mg) と国際公開第02/06279号パンフレット記載の方法で調製したコンブレタスタチンA-4 (100mg) をDMF (8.5ml) に溶解し、フェニルアラニンベンジルエステル塩酸塩 (83.4mg)、トリエチルアミン (0.04ml)、DMAP (16mg) およびDIPC (0.4ml) を加え、15℃にて20時間攪拌し、その後さらに25℃にて4時間攪拌した。反応液に酢酸エチル (70ml)、ヘプタン (70ml) を加え、室温にて30分攪拌した後沈析物を濾取し、酢酸エチル／ヘプタン (1/1 (v/v)、20ml) で洗浄した。得られた沈析物をアセトニトリル／水 (1/1 (v/v)、20ml) に溶解後、イオン交換樹脂 (ダウケミカル社製ダウエックス50 (H⁺)、3ml) に通塔し、アセトニトリル／水 (1/1 (v/v)、20ml) にて溶出した。得られた溶出画分に水 (35ml) を加え、アセトニトリルを減圧下留去し、その後凍結乾燥することによって化合物3 (710mg) を得た。
- [0063] HPLC (高速液体クロマトグラフィー) による反応液中の未反応コンブレタスタチンA

－4量の計量から、化合物3中のコンブレタスタチンA－4含量は7.9% (w/w)、 $d + e + f + g + h + i + j$ に対する $d + e$ の割合は14%であった。化合物3中、遊離のコンブレタスタチンA－4は未検出であった。

[0064] R5の一つとして導入したO－ベンジル－フェニルアラニル基は、化合物3をアセトニトリル－水酸化ナトリウム水溶液中40℃で6時間加水分解し、溶出したベンジルアルコールを定量することから求められ、O－ベンジル－フェニルアラニル基がポリアスパラギン酸に占める割合、即ち、 $d + e + f + g + h + i + j$ に対する $f + g$ の割合は、O－ベンジル－フェニルアラニル基が結合したものについては27%だった。又、R5としてイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基も導入され、その存在比は化合物3を重水酸化ナトリウム／重水／重アセトニトリルに溶解したものの $^1\text{H-NMR}$ (水素核磁気共鳴スペクトル) から求められる。イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基がポリアスパラギン酸に占める割合、即ち、 $d + e + f + g + h + i + j$ に対する $f + g$ の割合は、イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基が結合したものについては15%であった。この結果、R5の総量がポリアスパラギン酸に占める割合、即ち、 $d + e + f + g + h + i + j$ に対する $f + g$ の割合は42%であった。その他のアスパラギン酸は遊離カルボン酸 ($h + i$) あるいは環状構造 (j) であった。

[0065] 試験例1 酵素非存在下での薬剤放出

化合物1、化合物2又は化合物3を、PBS (リン酸緩衝生理食塩水; pH7.1) にポリマー濃度で1mg/mlで溶解し、37℃にてインキュベートした。該高分子結合体より放出されたコンブレタスタチンA－4を、HPLCにて分離し標準曲線を用いて定量した。定量値と高分子結合体の薬剤含有量から求めた全薬剤量との比を図1に示した。

図1に明らかなように、本発明の高分子結合体 (化合物1、化合物2及び化合物3) は加水分解酵素がなくても有意にコンブレタスタチンA－4を放出した。特に、コハク酸モノアミド構造部分を持つ化合物1及び化合物3は、コハク酸モノアミド構造部分を持たない化合物2と比較して、より早いコンブレタスタチンA－4の放出をした。図1の結果は、酵素非存在下での本発明の高分子結合体の優れた薬剤放出性能を示している。

[0066] 試験例2 抗腫瘍作用

マウス皮下で継代しているマウス大腸癌Colon26を約2mm角のブロックにし、套管針を用いて雌性CDF1マウスの背側部皮下に移植した。腫瘍移植後7日目から本発明の高分子結合体(化合物1)又は対照薬(コンブレタスタチンA-4)を、各々コンブレタスタチンA-4換算した投与量でマウス尾静脈内に単回投与した。コントロールは薬物を投与しない群である。化合物1は5%ブドウ糖注射液で溶解し用いた。コンブレタスタチンA-4はジメチルスルホキシドとクレモホールEL(シグマ社製)に溶解し、使用時に5%ブドウ糖注射液で希釈して用いた。投与後、腫瘍の長径(Lmm)及び短径(Wmm)を、ノギスを用いて計測し、腫瘍体積を $(L \times W^2) / 2$ により計算して投与開始日の腫瘍体積に対する相対腫瘍体積として表1に示した。

[0067] [表1]

	投与量	投与後日数(日)				
		0	2	4	7	8
化合物1	200mg/kg	1.00	0.87	0.98	1.15	1.71
	100mg/kg	1.00	0.99	1.38	2.87	4.91
コンブレタスタチンA-4	400mg/kg	1.00	1.24	2.21	5.09	6.41
	200mg/kg	1.00	1.77	3.73	9.25	12.03
コントロール		1.00	2.70	5.02	10.51	11.59

.....

[0068] 表1から本発明の高分子結合体(化合物1)は、コンブレタスタチンA-4よりも少ない投与量でコンブレタスタチンA-4より優れた抗癌活性を有することが明らかとなった。

[0069] 試験例3 抗腫瘍作用

マウス皮下で継代しているマウス大腸癌Colon26を約1mm角のブロックにし、套管針を用いて雌性CDF1マウス8の背側部皮下に移植した。腫瘍移植後7日目から本発明の高分子結合体(化合物2および化合物3)又は非特許文献1に記載の方法で合成した対照薬(コンブレタスタチンA-4リン酸エステル)を、各々コンブレタスタチンA-4換算した投与量でマウス尾静脈内に単回投与した。コントロールは薬物を投与しない群である。化合物2、化合物3および対照薬はすべて5%ブドウ糖注射液で

溶解し用いた。投与後、腫瘍の長径(Lmm)及び短径(Wmm)を、ノギスを用いて計測し、腫瘍体積を $(L \times W^2) / 2$ により計算して投与開始日の腫瘍体積に対する相対腫瘍体積として表2に示した。

[0070] [表2]

	投与量	投与後日数				
		0	2	4	7	9
化合物2	50mg/kg	1.00	0.99	1.11	3.05	5.52
化合物3	100mg/kg	1.00	0.79	0.99	0.84	1.18
	50mg/kg	1.00	1.15	1.20	1.59	3.87
コンブレタスタチンA-4リン酸エステル	200mg/kg	1.00	1.57	3.12	9.33	10.11
コントロール		1.00	2.82	5.70	12.23	19.58

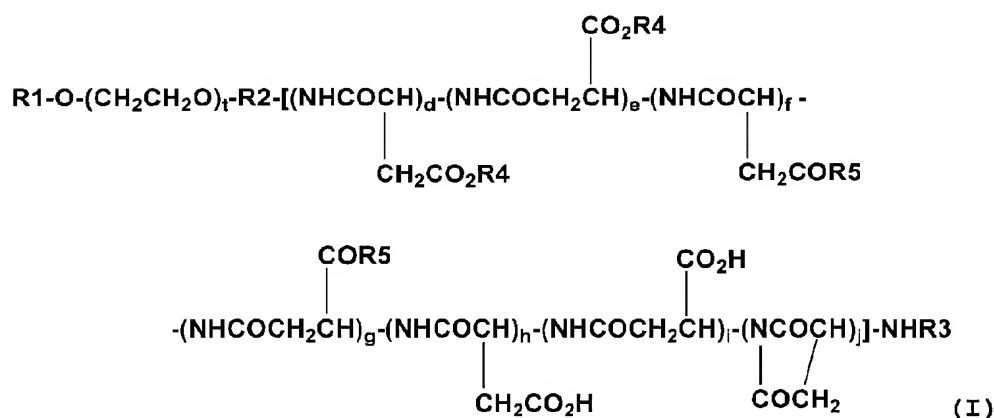
[0071] 表2から本発明の高分子結合体(化合物2および3)は、コンブレタスタチンA-4リン酸エステルよりも少ない投与量で、より優れた抗癌活性を有することが明らかである。

図面の簡単な説明

[0072] [図1]本発明の実施例1の化合物1及び3((メキシポリエチレングリコール誘導体-ポリアスパラギン酸)-コンブレタスタチンA-4結合体)と実施例2の化合物2((メキシポリエチレングリコール誘導体-ポリグルタミン酸)-コンブレタスタチンA-4結合体)のPBS溶液(pH7.1、37℃)中でのコンブレタスタチンA-4の全結合量に対する放出量の割合

請求の範囲

- [1] ポリエチレングリコール構造部分と2以上のカルボン酸基を有するポリマー部分とのブロック共重合体における該ポリマー部分のカルボン酸基とコンブレタスタチン類の水酸基とがエステル結合しているコンブレタスタチン類の高分子結合体。
- [2] カルボン酸基を有するポリマー部分がコハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーである請求項1記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。
- [3] コハク酸モノアミド構造部分を有するポリマーがポリアスパラギン酸である請求項2記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。
- [4] コンブレタスタチン類の高分子結合体が、一般式(I)
- [化6]

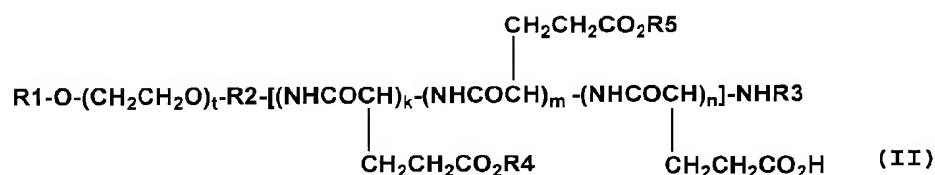


[式中、R1は水素原子又は(C1～C6)アルキル基を示し、R2は結合基を示し、R3は水素原子又は(C1～C6)アシル基を示し、R4はコンブレタスタチン類の水酸基の残基を示し、R5は(C1～C30)アルコキシ基、(C7～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び-N(R6)CONH(R7)からなる群から選ばれる基を示し、R6、R7は同一でも異なってもよく、(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基を示し、tは5～11500の整数を示し、d、e、f、g、h、i若しくはjは各々独立に0～200の整数を示し、ただしd+eは1～200の整数を示し、且つ、d+e+f+g+h+i+jは3～200の整数を示し、ポリアスパラギン

ン酸の各構成単位の結合順は任意である]

で表される化合物である請求項1～3のいずれか一項に記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。

- [5] R1が(C1～C6)アルキル基であり、R2が(C2～C6)アルキレン基であり、R3が(C1～C6)アシル基であり、tが8～2300の整数であり、d、e、f、g、h、i若しくはjが各々独立に0～100の整数であり、ただしd+eが1～100の整数であり、且つ、d+e+f+g+h+i+jが6～100の整数である請求項4記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。
- [6] R1が(C1～C3)アルキル基であり、R2が(C2～C4)アルキレン基であり、R3が(C1～C3)アシル基であり、tが100～300の整数であり、d、e、f、g、h、i若しくはjが各々独立に0～90の整数であり、ただしd+eが1～90の整数であり、且つ、d+e+f+g+h+i+jが15～90の整数である請求項4又は5に記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。
- [7] カルボン酸基を有するポリマー部分がポリグルタミン酸である請求項1記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。
- [8] コンブレタスタチン類の高分子結合体が、一般式(II)
- [化7]

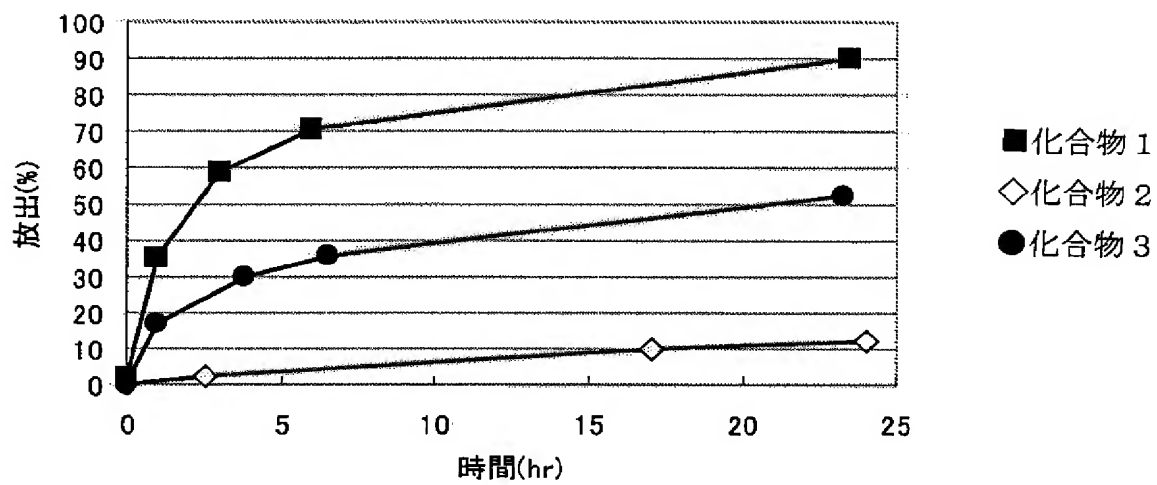


[式中、R1は水素原子又は(C1～C6)アルキル基を示し、R2は結合基を示し、R3は水素原子又は(C1～C6)アシル基を示し、R4はコンブレタスタチン類の水酸基の残基を示し、R5は(C1～C30)アルコキシ基、(C7～C30)アラルキルオキシ基、(C1～C30)アルキルアミノ基、ジ(C1～C30)アルキルアミノ基、カルボキシ基が保護されたアミノ酸及び-N(R6)CONH(R7)からなる群から選ばれる基を示し、R6、R7は同一でも異なってもよく、(C3～C6)環状アルキル基若しくは三級アミノ基で置換されていてもよい(C1～C5)アルキル基を示し、tは5～11500の整数を示し、k

は1～200の整数を示し、m、nは各々独立に0～200の整数を示し、ただし、 $k+m+n$ は3～200の整数を示し、ポリグルタミン酸の各構成単位の結合順は任意である]で表される化合物である請求項1又は7に記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。

- [9] R1が(C1～C6)アルキル基であり、R2が(C2～C6)アルキレン基であり、R3が(C1～C6)アシル基であり、tが8～2300の整数であり、kが1～90の整数であり、m、nが各々独立に0～90の整数であり、ただし $k+m+n$ が6～90の整数である請求項8に記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。
- [10] R1が(C1～C3)アルキル基であり、R2が(C2～C4)アルキレン基であり、R3が(C1～C3)アシル基であり、tが100～300の整数であり、kが3～60の整数であり、m、nが各々独立に0～60の整数であり、ただし $k+m+n$ が6～60の整数である請求項8又は9に記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。
- [11] コンブレタスタチン類がコンブレタスタチンA-4である請求項1～10のいずれか一項に記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体。
- [12] ポリエチレングリコール構造部分と2以上のカルボン酸基を有するポリマー部分とのブロック共重合体における該ポリマー部分のカルボン酸基と、コンブレタスタチン類の水酸基とを有機溶媒中、脱水縮合剤を用いてエステル結合させて得られるコンブレタスタチン類の高分子結合体。
- [13] ポリエチレングリコール構造部分と2以上のカルボン酸基を有するポリマー部分とのブロック共重合体における該ポリマー部分のカルボン酸基と、コンブレタスタチン類の水酸基とを有機溶媒中、脱水縮合剤を用いてエステル結合させることを特徴とする請求項1～11のいずれか一項に記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体の製造方法。
- [14] 請求項1～12に記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体を有効成分とする抗癌剤。
- [15] 請求項1～12に記載のコンブレタスタチン類の高分子結合体を有効成分とする血管標的化剤。

[図1]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/063990

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K47/48(2006.01)i, A61P9/00(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, C08G81/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K47/48, A61P9/00, A61P35/00, C08G81/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2007
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2007	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2007

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 5-955 A (Nippon Kayaku Co., Ltd.), 08 January, 1993 (08.01.93), Claims (Family: none)	1, 7-15
Y	JP 2694923 B2 (Japan Science and Technology Corp.), 12 September, 1997 (12.09.97), Claims; Par. No. [0012] (Family: none)	1-15
Y	JP 3268913 B2 (Nippon Kayaku Co., Ltd.), 18 January, 2002 (18.01.02), Claims (Family: none)	1-15

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
04 October, 2007 (04.10.07)

Date of mailing of the international search report
16 October, 2007 (16.10.07)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/063990

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2004/039869 A1 (Nippon Kayaku Co., Ltd.), 13 May, 2004 (13.05.04), Claims & EP 001580216 A1 & US 2006-0067910 A1	1-15
Y	JP 2002-512265 A (ENZON, INC.), 23 April, 2002 (23.04.02), Claims; Par. No. [0045] & WO 99/053961 A1 & EP 001071455 A1 & US 006153655 A1	1-15
Y	JP 2004-530736 A (ENZON PHARMACEUTICALS, INC.), 07 October, 2004 (07.10.04), Claims; Par. No. [0070] & WO 02/066066 A1 & EP 001361895 A1 & US 2002-0161062 A1	1-15
Y	JP 2004-532289 A (ENZON PHARMACEUTICALS, INC.), 21 October, 2004 (21.10.04), Claims; Par. No. [0047] & WO 02/065988 A2 & EP 001362053 A2 & US 2002-0183259 A1	1-15
Y	WO 02/06279 A1 (OXIGENE, INC.), 24 January, 2002 (24.01.02), Claims & US 2002-0119951 A1	1-15
Y	J.Org.Chem.66, pages 8135 to 8138 (2001 Nen)	1-15
Y	Anti-Cancer Drug Design, 14, pages 539 to 548 (1999 Nen)	1-15
Y	JP 2005-507912 A (OXIGENE, INC.), 24 March, 2005 (24.03.05), Claims & WO 03/035008 A2 & EP 001438281 A2 & US 2003-0149003 A1	15

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K47/48(2006.01)i, A61P9/00(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, C08G81/00(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K47/48, A61P9/00, A61P35/00, C08G81/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2007年
日本国実用新案登録公報	1996-2007年
日本国登録実用新案公報	1994-2007年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P 5-955 A (日本化薬株式会社) 1993.01.08、 特許請求の範囲 (ファミリー無し)	(1)、(7) ~ (15)
Y	J P 2694923 B2 (科学技術振興事業団) 1997.09.12、 特許請求の範囲、段落【0012】 (ファミリー無し)	(1) ~ (15)
Y	J P 3268913 B2 (日本化薬株式会社) 2002.01.18、 特許請求の範囲 (ファミリー無し)	(1) ~ (15)

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願口前出願または特許であるが、国際出願口以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

04.10.2007

国際調査報告の発送日

16.10.2007

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

船岡 嘉彦

電話番号 03-3581-1101 内線 3457

4 J

6958

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ - *	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO 2004/039869 A1 (日本化薬株式会社) 2004. 05. 13、特許請求の範囲 & EP 001580216 A1 & US 2006-0067910 A1	(1) ~ (15)
Y	JP 2002-512265 A (エンゾン、インコーポレーテッド) 2002. 04. 23 特許請求の範囲、段落【0045】 & WO 99/053961 A1 & EP 001071455 A1 & US 006153655 A1	(1) ~ (15)
Y	JP 2004-530736 A (エンゾン、ファーマシューティカルズ、インコーポレーテッド) 2004. 10. 07 特許請求の範囲、段落【0070】 & WO 02/066066 A1 & EP 001361895 A1 & US 2002-0161062 A1	(1) ~ (15)
Y	JP 2004-532289 A (エンゾン、ファーマシューティカルズ、インコーポレーテッド) 2004. 10. 21 特許請求の範囲、段落【0047】 & WO 02/065988 A2 & EP 001362053 A2 & US 2002-0183259 A1	(1) ~ (15)
Y	WO 02/06279 A1 (OXIGENE, INC) 2002. 01. 24、特許請求の範囲 & US 2002-0119951 A1	(1) ~ (15)
Y	J. Org. Chem. 66、8135~8138頁 (2001年)	(1) ~ (15)
Y	Anti-Cancer Drug Design、14、539~548頁 (1999年)	(1) ~ (15)
Y	JP 2005-507912 A (オキシジーン、インコーポレーテッド) 2005. 03. 24 特許請求の範囲 & WO 03/035008 A2 & EP 001438281 A2 & US 2003-0149003 A1	(15)